

**Fraktionierung von Serumeiweiß
durch Uranylazetat**

Hans Becker

Druck: Anneliese Schubert, München 5, Corneliusstraße 21, Telefon 221777

AUS DEM LABORATORIUM
Leiter: Professor Dr. Dr. K. DIRR
DER II. MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄTSKLINIK MÜNCHEN
Direktor: Professor Dr. Dr. G. BODECHTEL

FRAKTIONIERUNG VON SERUMEIWEISS

DURCH URANYLAZETAT

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Hans Becker
aus München



München 1959

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. Dr. K. DIRR
Dekan: Professor Dr. K. KOLLE

Tag der mündlichen Prüfung: 16.7.1959



GLIEDERUNG

I. Einführung:

Allgemeines über die Fraktionierung der Serumproteine.

Eiweisskörper, die bei der Enteiweissung nach Neubauer nicht erfasst werden.

Proteinfällung mit Uranylazetat in Abhängigkeit vom p_H , der Proteinkonzentration und der Uranylazetatsmenge.

II. Methodik:

1.) Uranylazetatfällung

2.) Eiweissbestimmung

3.) Bestimmung von Uranylazetat

4.) Vereinfachung der Ansätze 1.) und 2.)

5.) Papierelektrophoretische Untersuchungen

6.) Darstellung einer elektrophoretisch reinen Gamma-Globulinfraktion

7.) Darstellung einer elektrophoretisch reinen Alpha_1 -Globulinfraktion

III. Ergebnisse und Diskussion

IV. Zusammenfassung:

V. Erklärung der Abbildungen:

VI. Literatur:

EINFÜHRUNG

Grundlegend für die elektrophoretischen Fraktionierungen von Serumproteinen sind die Arbeiten von TISELIUS (21), LONGSWORTH (11), PHILPOT (18) und SVENSSON (20). DOLE und SVENSSON (20) formulierten durch ihre Untersuchungen die Abhängigkeit der prozentualen Konzentrationen der einzelnen Serumproteinfraktionen von der Ionenstärke und von der Menge der Serumproteine, welche zur Elektrophorese gebracht werden. LONGSWORTH, SHEDLOVSKY und McINNES (12) führten den Diaethylbarbiturat-Puffer ein, welcher Ionen mit geringer Beweglichkeit enthält. Ähnliche Untersuchungen mit im wesentlichen gleichen Ergebnissen wie die der vorerwähnten Autoren stellten ARMSTRONG, BUDKA, MORRISON (1) und PERLMANN (17) an. Die ersten ausgedehnten Versuche, durch Ultrazentrifugation Serumproteine zu fraktionieren, gehen auf MUTZENBECHER (14) zurück. Seine Untersuchungsergebnisse wurden jedoch weitgehend abgewandelt und abgelöst durch Arbeiten von McFARLANE (15) und PEDERSEN (16). Die grosse Mehrzahl der Forscher aber, welche sich die Fraktionierung der Serumproteine zur Aufgabe gestellt hatten, verwendeten Ammoniumsulfat. Dies deshalb, weil erwähntes Salz eine sehr grosse Löslichkeit in Wasser hat und daher die Erreichung einer sehr hohen Ionenstärke zulässt. Die ausgedehnten Untersuchungen, durch Aussalzung mit Ammoniumsulfat Serumproteine zu fraktionieren, wurden von PEDERSEN (16) durchgeführt. COHN, McMEEKIN, ONKLEY, NEWELL und HUGHES (2) untersuchten systematisch die Fraktionen, die durch Ammoniumsulfat-Fällung erhalten werden. Neben Ammoniumsulfat fand Natriumsulfat sehr verbreitet Verwendung zur Fraktionierung von Serumproteinen. Dies vor allem in den Arbeiten von HOWE (8). Ebenfalls wurden mit konzentrierten Kaliumphosphat-Lösungen durch COHN (3), BUTLER und MONTGOMERY Fraktionierungsversuche an Serumproteinen durchgeführt. WUHRMANN und WUNDERLY (24) wandten den Aussalzeffekt mit Kaliumphosphat an pathologischen Seren an.

Seit einer Reihe von Jahrzehnten wird nun in der Klinik für die Serumenteiweissung das Verfahren nach NEUBAUER verwendet. Voraussetzung hierfür war die Annahme, dass die gesamten Eiweisskörper niedergeschlagen werden, um im Filtrat den sogenannten Rest-Stickstoff durch die KJELDAHL-Methode (10) bestimmen zu können. Es hat sich herausgestellt, dass nach diesem Verfahren im allgemeinen enteiwisst werden kann. DIRR jedoch zeigte (5, 6, 7), dass auch Krankheitsbilder vorkommen (bei γ -Plasmocytom, in wenigen Kar-

zinom-Fällen, bei manchen Leberzirrhosen und auch bei Diphtherie- und Tetanus-Antitoxininfektionen), bei welchen im Serum Eiweisskörper auftreten, die hierbei nicht erfasst werden, sondern ins Filtrat gelangen und hier dann fälschlicherweise als stark erhöhter Rest-Stickstoff gewertet werden. Es handelt sich hierbei um verhältnismässig wohldefinierte Eiweisskörper, die neben der Nichtfällbarkeit durch Uranylazetat bei bestimmten p_H noch andere Eigenschaften gemeinsam haben, wie z.B. gleiche Wanderungsgeschwindigkeit bei der Elektrophorese, wobei sie bei den γ -Globulinen erscheinen (4, 9, 13, 19, 22); ferner ähnliche Zusammensetzung der Hydrolyseprodukte, wobei Methionin und Hydroxyprolin entweder ganz fehlen oder nur in sehr kleiner Menge auftreten.

Auf Grund dieser Erkenntnis wurde nun der Versuch unternommen, durch eine einfache Serumproteinausfällung mit Uranylazetat eine ganz bestimmte Proteinfraction abzutrennen.

Zu diesem Zwecke musste zunächst die Abhängigkeit der Proteinfällung vom p_H , von der Uranylazetatsmenge und der Serumkonzentration bestimmt werden. Zur Einstellung der Wasserstoffkonzentrationen über den interessierenden p_H -Bereich wurde NaOH bzw. HCl in Form verdünnter Lösungen verwendet. (Infolge der Neigung des Uranyliions zu Komplexbildungen mit Anionen waren Pufferlösungen unerwünscht). Die Bestimmung der hieraus resultierenden p_H -Werte erfolgte mit der Glaselektrode. Nach dem Zentrifugieren wurde der Proteingehalt im Niederschlag und im Überstehenden nach weiterer Fällung mit Perchlorsäure mit der B i e r e t - Methode (23), die Uranyliionen im Überstehenden der Perchlorsäurefällungen kolorimetrisch mit Kaliumferrozyanid bestimmt. An Hand von 10 Versuchsreihen wurde nun die Abhängigkeit der Proteinfällung vom p_H , ferner die Mitfällung der Uranyliionen ebenfalls in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration, bei konstanter Proteinkonzentration (konstant für sämtliche 10 Reihen) und wechselnden Uranylazetatsmengen (konstant, aber für jeweils eine Versuchsreihe) erfasst (Abb. 1 und 2). In drei weiteren Versuchsreihen wurde die Abhängigkeit der Proteinausfällung von der Serumkonzentration bei konstanter Uranylazetatsmenge und variierendem p_H bestimmt. (Abb. 3). Im weiteren Verlauf liessen sich nun, anschliessend an die vorerwähnten Ergebnisse, Bedingungen ableiten, die durch einfache Uranylazetatfällung zur Darstellung elektrophoretisch reiner γ - und α_1 -Globuline führen (Abb. 4 und 5).

Die obengenannten Ausführungen (Abb. 1, 2, 3, 4, 5) zeigen die quantitative Auswertung der Proteinfällung mit Uranylazetat aus menschlichem Normal-

serum (Mischserum gesunder Personen). Die Kurvenpunkte (der Abb. 1, 2, 3) wurden in Prozent des ausgefällten Proteins angegeben, in Abhängigkeit vom p_H und der Uranylazetat- und Proteinkonzentration. Die Kurven werden in ihrer Form bestimmt durch die Zusammensetzung des Serums aus den einzelnen Serumproteinen. Dies lässt sich durch die Proteinfällung aus pathologischen Seren mittels der angegebenen neuen Technik zeigen (Abb. 6) und zwar anknüpfend an die Feststellung von DIRR, dass bei einem Teil der γ -Plasmocytomfälle ein Paraprotein auftritt, welches nicht fällbar ist (5). In anderen γ -Plasmocytomfällen lässt sich erwähntes Paraprotein durch die einfache Uranylazetatprobe nicht nachweisen. Der Nachweis dieses Eiweißkörpers erfolgte bisher durch die Uranylazetatfällung nach NEUBAUER und Erfassung des ungefällten Paraproteins mit Sulfosalizylsäure. Bei Anwendung der neuen Methode lassen sich nun auch Plasmocytomfälle, bei welchen die einfache Uranylazetatprobe negativ ist, durch jene Technik differenzieren.

METHODIK

1. Uranylazetatfällung: 4 ml Uranylazetatlösung (1,0, 0,9 usw. bis 0,1 %ig für Versuchsreihe 1 - 10 (Abb. 1 und 2, Kurve 1 - 10)), 2 ml Salzsäure- bzw. Natronlaugeverdünnung und 4 ml einer Serumverdünnung 1 : 1 (aus Mischserum mit 7,0 % Protein) werden vermisch, in der Mischung das p_H bestimmt, und zentrifugiert. Die Konzentrationen der aus 0,1 n Salzsäure bzw. Natronlauge hergestellten Lösungen wurden für jede Messreihe durch Vorversuche ermittelt, damit die resultierenden p_H -Werte den interessierenden Bereich überdeckten.

2. Eiweissbestimmung: Vom Überstehenden der Uranylazetatfällung werden 5 ml mit 5 ml 6 %iger Überchlorsäure gefällt und zentrifugiert. (Anm.: Bereits 5 ml einer 2,5 %igen Überchlorsäure fällen gerade noch quantitativ die Proteine aus 1 ml Serum.) Der Uranylazetatniederschlag wird mit 5 ml Wasser und 5 ml Überchlorsäure digeriert und zentrifugiert. Die Überchlorsäureniederschläge werden mit Wasser auf 5 ml (graduierte Zentrifugengläser) aufgefüllt, gut suspendiert und mit 5 ml 5 %iger Natronlauge in Lösung gebracht. 1 ml dieser Lösung wird mit 5 ml Biuretreagens nach WEICHSELBAUM (23) und 4 ml Wasser gemischt und nach 30 Minuten bei 564 mμ und einer Schichtdicke von 2 cm kolorimetriert. Die Eichkurve wird mit einer Verdünnungsreihe des gleichen Serums unter gleichen Bedingungen (Überchlorsäurefällung usw.) hergestellt und gestattet daher die Ablesung in Prozent der eingesetzten Serummeng.

3. Bestimmung von Uranylazetat: 4 ml des Überstehenden der Perchlorsäurefällung (s. 2.) werden mit 4 ml Wasser und 1 Tropfen Phenolphthaleinlösung versetzt und mit 4 %iger Kalilauge bis zum Umschlag titriert, auf 15 ml aufgefüllt und mit 4 ml Eisessig versetzt. Das ausgefallene Kaliumperchlorat setzt sich schnell ab. (Anm.: Die Farbreaktion mit Ferrozyanid wird stark durch Anionen beeinflusst. Daher muss Perchlorat ausgefällt werden. Der Einfluss noch vorhandener Anionen wird durch die Eisessigzugabe zurückgedrängt.) 9 ml vom Überstehenden werden mit 1 ml einer 1 %igen Kaliumferrozyanidlösung versetzt und bei 436 mμ und 1 cm Schichtdicke kolorimetriert. Ähnlich wie bei der Eiweissbestimmung erfolgt die Auswertung an Hand einer Eichkurve, die aus einer mit entsprechendem Überchlorsäurezusatz hergestellten Verdünnungsreihe der verwendeten Uranylazetatlösung nach der gleichen Vorschrift gewonnen wurde.

4. Wenn keine grösseren Serummengen zur Verfügung stehen, lassen sich 1.

und 2. auch mit $1/5$ der dort angegebenen Mengen durchführen, indem man entweder für die Kolorimetrie 0,5 ml-Küvetten verwendet oder einen grösseren Teil des in Natronlauge gelösten Überchlorsäureniederschlages zur Messung bringt. Ausserdem kann man sich damit begnügen, die Eiweisskonzentration im Überstehenden der Uranylazetatfällung zu erfassen und den gefällten Anteil daraus zu berechnen. Auf diese Weise wurden die in Abb. 3 dargestellten Messungen unter Variation der Eiweisskonzentration bei konstanter Uranylazetatkonzentration durchgeführt. Desgleichen Messungen an pathologischen Seren (Abb. 6).

5. Papierelektrophoretische Untersuchung von Uranylazetatfällungen: Die abzentrifugierte Uranylazetatfällung eines Ansatzes nach 1. wird mit möglichst wenig sehr verdünnter Natronlauge gerade in Lösung gebracht. Diese Lösung wird elektrophoretisch nach GRASSMANN untersucht. Die Uranylionen stören beim p_H des Veronalpuffers (p_H 8,6) die Elektrophorese nicht. Aus dem Überstehenden des Ansatzes wird durch Zugabe von mehr Uranylazetat und Einstellung des p_H auf 4,5 - 5,5 mit sehr verdünnter Salzsäure oder Natronlauge sämtliches Protein ausgefällt, abzentrifugiert und wie oben untersucht.

6. Darstellung einer elektrophoretisch reinen γ -Globulinfraktion: In einem Ansatz nach 1., der in 6 ml Gesamtvolumen 2 ml 0,7 %iger Uranylazetatlösung, 2 ml einer Serumverdünnung 1 : 1 und soviel Salzsäure in 2 ml Wasser enthielt, dass sich ein p_H von 4,3 einstellte, fanden wir 9,5 % des eingesetzten Proteins im Überstehenden und 92 % bei der Kontrollbestimmung im Niederschlag. Dies entspricht im Diagramm Abb. 1 dem mit Y bezeichneten Punkt. Die Elektrophorese ergab, dass unter diesen Bedingungen im Überstehenden nur eine elektrophoretisch einheitliche γ -Globulinfraktion zurückbleibt (Abb. 4).

7. Darstellung einer elektrophoretisch einheitlichen α_1 -Globulinfraktion: Ein 6. entsprechender Ansatz mit 0,5 %iger Uranylazetatlösung und mehr Salzsäure führte zu einem p_H von 3,25, entsprechend dem Punkt Z im Diagramm Abb. 1. Hierbei wurden nur 5 % der Proteine gefällt und 95 % blieben in Lösung. Bei Untersuchung nach 5. erwies sich das Protein im Niederschlag als papierelektrophoretisch einheitliches α_1 -Globulin (Abb. 5).

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Abb. 1 zeigt die Abhängigkeit der ausgefällten Serumproteinmenge (in % der eingesetzten Menge) vom p_H und von der zur Fällung verwendeten Uranylazetatmenge. Die punktierte Linie verbindet die Punkte, auf die man bei der Fällung mit steigenden Uranylazetatsmengen ohne Zusatz von Säure oder Lauge gelangt. Auf dieser Linie ist ein Punkt (X) hervorgehoben, der dem von NEUBAUER angegebenen Ansatz entspricht. Abb. 2 zeigt die Beteiligung der Uranylionen an der Proteinfällung (in Prozent der eingesetzten Uranylazetatsmenge) in Abhängigkeit vom p_H und von der Uranylazetatkonzentration. Während bei Abb. 1 und 2 die Fällung bei einer einzigen Proteinkonzentration (1,4 %) untersucht wurde, zeigt Abb. 3 die Fällung absteigender Proteinmengen durch ein und dieselbe Uranylazetatmenge in Abhängigkeit vom p_H .

Die Betrachtung der Diagramme Abb. 1, 2 und 3 zeigt, dass Uranylazetat ein Fällungsoptimum bei p_H 5,1 besitzt. Sowohl nach der sauren wie nach der alkalischen Seite hin wird prozentual weniger gefällt und zwar insbesondere beim Einsatz geringerer Mengen Uranylazetat bezogen auf die Proteinmenge. Mit Uranylazetat im Überschuss erstreckt sich das Gebiet vollständiger Fällung von ca. p_H 4,3 bis 5,7. Die Lage des Punktes (X) im Diagramm Abb. 1 zeigt, dass die Vorschrift von NEUBAUER tatsächlich zum optimalen Punkt der Fällung führt. Weiter lässt sich ersehen, dass bei p_H 5,1 (Fällungsoptimum) bereits 16 mg Uranylazetat (4 ml einer 0,4 %igen Lösung) zur Ausfällung der Proteine aus 2 ml Serum in 10 ml Gesamtansatz gerade noch ausreichen würden, während die Vorschrift von NEUBAUER (1 ml Serum, 3 ml Wasser, 1 ml 1,55 %iges Uranylazetat) hierzu 31 mg verlangt. Doch müsste man hierzu das p_H durch Säurezusatz auf 5,1 nachstellen, da 16 mg Uranylazetat allein nur auf ein p_H von 5,78 führen (Schnittpunkt der Kurve 7, Abb. 1 mit der punktierten Linie), bei dem keine quantitative Ausfällung auftritt. NEUBAUER erreicht also mit dem Uranylazetatüberschuss eine automatische Einstellung des optimalen p_H -Wertes.

Auffallend ist die Ähnlichkeit der Diagramme Abb. 1 und 2. Dies besagt einmal, dass der Niederschlag keine konstante Zusammensetzung besitzt, sondern um so mehr Uranylazetat enthält, je mehr für die Fällung eingesetzt wird. Weiter zeigt sich, dass das Uranylion bei allen Fällungsbedingungen sich ungefähr ebenso zwischen Lösung und Niederschlag verteilt, wie das Protein. Dies scheint darauf hinzuweisen, dass sowohl das gelöste als auch das gefällte Protein Uranylionen mit etwa der gleichen Affinität bindet, dass aber eine Ausfällung erst ab einer bestimmten, für verschiedene Proteine verschieden starken, Beladung der Proteinmoleküle mit Uranylionen eintritt.

An den Stellen des Diagrammes, an denen keine vollständige Fällung eintritt, liessen sich nun prinzipiell Fraktionierungseffekte erwarten und konnten auch durch papierelektrophoretische Untersuchungen der gefällten und überstehenden Fraktionen leicht nachgewiesen werden. Von den so untersuchten Fraktionierungsbedingungen verdienen zwei besonders hervorgehoben zu werden, da sie zur einfachen präparativen Gewinnung elektrophoretisch reiner Serumproteinfraktionen in guter Ausbeute geeignet sind: Bei p_H 4,3 fällt als letzte der Proteinfraktionen eine elektrophoretisch reine γ -Globulinfraktion aus (Abb. 5). Durch Anwendung einer zur vollständigen Fällung unzureichenden Uranylazetatmenge lässt sich diese in einer Ausbeute von ca. 9 % des Gesamtproteins gewinnen (Methodik, 6). Bei p_H 3-4 fällt ferner als erste Fraktion eine elektrophoretisch reine α_1 -Globulinfraktion aus (daher erreichen die Kurven Abb. 1 und 2 auch bei p_H 3 noch nicht die Nullinie). Sie liess sich durch Fällung bei p_H 3,25 mit wenig Uranylazetat (Abb. 4) in einer Ausbeute von ca. 5 % des Gesamtproteins gewinnen (Methodik, 7). Obwohl die angegebenen Vorschriften nicht vom Standpunkt der Erzielung höchster Ausbeuten, sondern mit dem Ziel der Gewinnung elektrophoretisch reiner Fraktionen ausgesucht wurden, erscheint es bemerkenswert, dass damit wohl fast die ganze α_1 -Globulinfraktion und ein erheblicher Teil der γ -Globulinfraktion durch ein einfaches, einstufiges Fällungsverfahren präparativ zugänglich werden.

Wir untersuchten noch eine Reihe anderer Punkte der Abb. 1. Dabei erhielten wir zunächst nur Gemische der einzelnen Fraktionen. Doch ist zu erwarten, dass man auf diesem Weg durch Variierung der Versuchsbedingungen schliesslich jeweils auch zu anderen elektrophoretisch einheitlichen Serumproteinen gelangen kann. Bezüglich der Globuline ist es bemerkenswert, dass Uranylazetat im Gegensatz zu den bisher bekannten Eiweissfällungsmitteln die γ -Globuline nicht als erste, sondern als letzte Fraktion bei schwach saurem p_H fällt.

Während wir für die Uranylazetatfällung in Abb. 1 und 2 normales menschliches Mischserum verwendeten, führten wir in Abb. 6 und 7 eine Proteinfällung mit Uranylazetat nach der oben genannten Methode aus pathologischen Seren (γ -Plasmocytom) durch. Die hierbei gefundenen Fällungskurven wurden solchen gegenübergestellt, die sich aus der Verwendung von normalem menschlichem Mischserum ergaben. Die Proteinkonzentration in den Ansätzen der Vergleichskurven wurde auf den Eiweissgehalt in den Ansätzen für die pathologischen Fällungsreihen abgestimmt.

Die Betrachtung der Abb. 7 ergibt, dass die Fällungskurve mit γ -Plasmocytomserum im Ansatz (Kurve 2 der Abb.) erhebliche Abweichungen gegenüber derjenigen zeigt, für welche menschliches Mischserum zur Anwendung kam und die

zum Vergleich angefertigt wurde (Kurve 1 der Abb.). Die ganze Kurve ist gegenüber der Vergleichskurve um etwa 0,25 p_H -Einheiten ins Alkalische verschoben. Ein deutlicher Knick im sauren Bereich liegt zwischen p_H 4,8 und p_H 5,2 mit dem Scheitelpunkt im experimentellen Nullpunkt (p_H 5,0). Die elektrophoretischen Untersuchungen (Abb. 8) des Überstehenden bei der Proteinfällung mit Uranylazetat aus γ -Plasmocytomserum bei p_H 5,0 zeigt auf dem entwickelten Elektrophoresestreifen Eiweisskörper, die im elektrischen Feld wie γ -Globuline gewandert sind. Der alkalische Ast der Fällungskurve reicht weit über p_H 8,0 hinaus. Auch die Proteinausfällung aus γ -Plasmocytomserum mit Uranylazetat in Abb. 7 zeigt erhebliche Abweichungen von der Vergleichskurve, die aber gegenüber der Proteinausfällung aus γ -Plasmocytomserum in Abb. 6 nicht so ausgesprochen sind.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Ausfällung der Serumproteine durch Uranylazetat in Abhängigkeit vom p_H , von der Uranylazetatsmenge und vom Proteingehalt der Ansätze wird quantitativ erfasst. Das p_H -Optimum für die Fällung von Serumproteinen mit Uranylazetat liegt bei p_H 5,1. Bei der Enteiweissung nach dem Verfahren von NEUBAUER stellt sich dieser optimale p_H -Wert ein.

Durch Fällung bei p_H 3,0 - 4,7 mit Uranylazetat lassen sich aus Seren als erste ausfallende Fraktion elektrophoretisch reine α_1 -Globuline und als zuletzt ausfallende Fraktion elektrophoretisch reine γ -Globuline darstellen.

Die Proteinausfällung aus γ -Plasmocytomserum mit Uranylazetat bei wechselnder Wasserstoffionenkonzentration zeigt einen wesentlich anderen Kurvenverlauf als die Eiweissfällung aus normalem menschlichem Mischserum.

ERKLÄRUNG DER ABBILDUNGEN

Abb. 1: Ausfällung von Proteinen aus einer 1,4 %igen Serumproteinlösung durch 0,4 - 0,04 % Uranylazetatlösung bei verschiedenen p_H -Werten. Kurven 1 - 10 entsprechen 0,4 - 0,04 % Uranylazetat (4 ml 1,0 - 0,1 % Uranylazetatlösung auf 10 ml Gesamtumsatz). In der Abb. ist ferner eine Linie eingetragen, welche den p_H -Werten entspricht, die sich bei der Uranylazetatfällung ohne Säure- bzw. Laugenzusatz einstellen. Der Kurvenpunkt X entspricht dem von NEUBAUER angegebenen Ansatz. Die Kurvenpunkte Y und Z geben die Bedingungen an, die zur Darstellung von elektrophoretisch reinen γ - und α_1 -Globulinen führten.

Abb. 2: Mitfällung von Uranylionen bei der Ausfällung von Proteinen (Fällungsbedingungen siehe Abb. 1).

Abb. 3: Ausfällung von Proteinen aus der 0,48 %igen (1), 1,32 %igen (2) und einer 1,72 %igen (3) Serumproteinlösung durch 0,32 % Uranylazetatlösung in Abhängigkeit vom p_H . Ordinate: Ausgefällte Serumproteine in % vom Gesamteiweiss im Ansatz.

Abb. 4: Elektropherogramm einer γ -Globulinfraktion (Kurvenpunkt Y der Abb. 1) aus Serum neben Normalserum.

Abb. 5: Elektropherogramm einer α_1 -Globulinfraktion (Kurvenpunkt Z der Abb. 1) aus Serum neben Normalserum.

Abb. 6: Proteinausfällung mit Uranylazetat aus γ -Plasmoxytomserum (Kurve 2). Der Kurve 2 ist eine Fällungskurve gegenübergestellt, welche menschliches Mischserum im Ansatz enthält. Bei beiden Kurven sind die Proteinkonzentrationen in den Ansätzen aufeinander abgestimmt (auf 1 mg Serumeiweiss entfallen 0,17877 mg Uranylazetat).

Abb. 7: Proteinausfällung aus γ -Plasmocytomserum mit Uranylazetat (Kurve 2). Dieser Fällungskurve ist Kurve 1 gegenübergestellt, welche menschliches Mischserum im Ansatz enthält. Die Eiweisskonzentrationen beider Kurven sind aufeinander abgestimmt (auf 1 mg Serumeiweiss entfallen 0,1951 mg Uranylazetat). Die Pfeile kennzeichnen die experimentellen Nullpunkte.

Abb. 8: Elektropherogramm des Überstehenden nach erfolgter Proteinausfällung mit Uranylazetat bei p_H 5,0 aus γ -Plasmocytomserum neben Normalserum.

ABBILDUNG 1

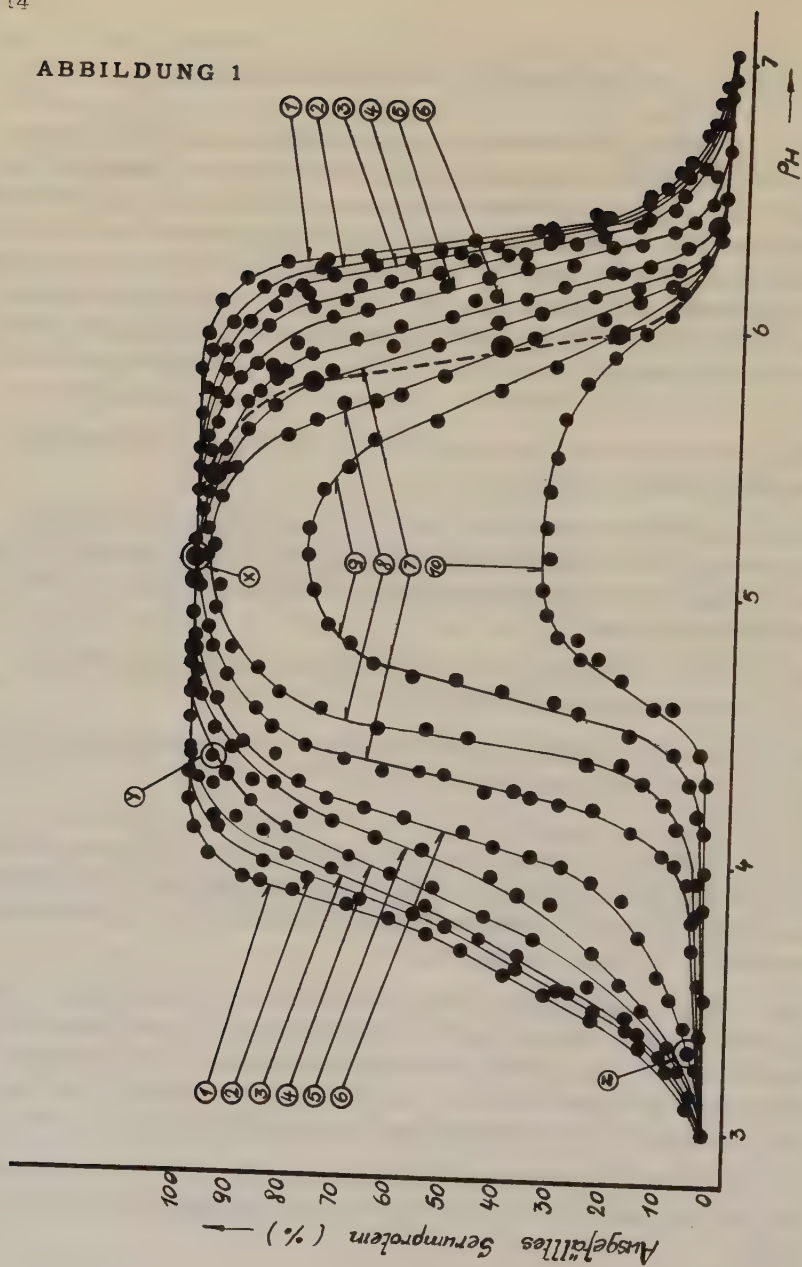


ABBILDUNG 2

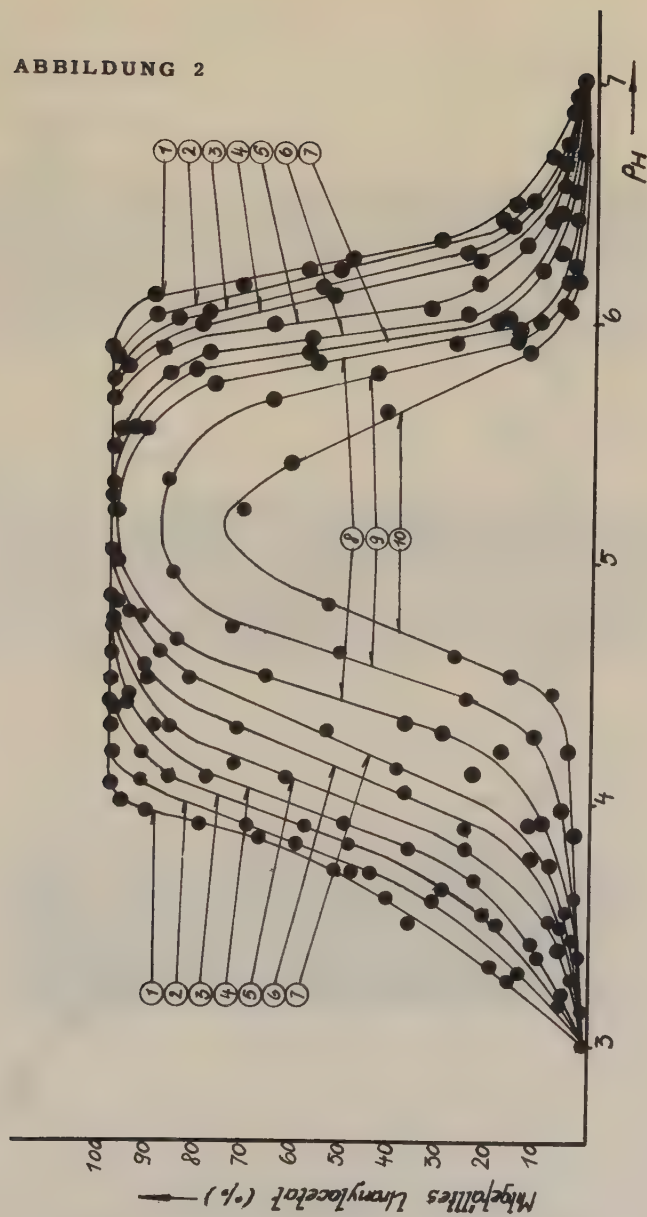


ABBILDUNG 3

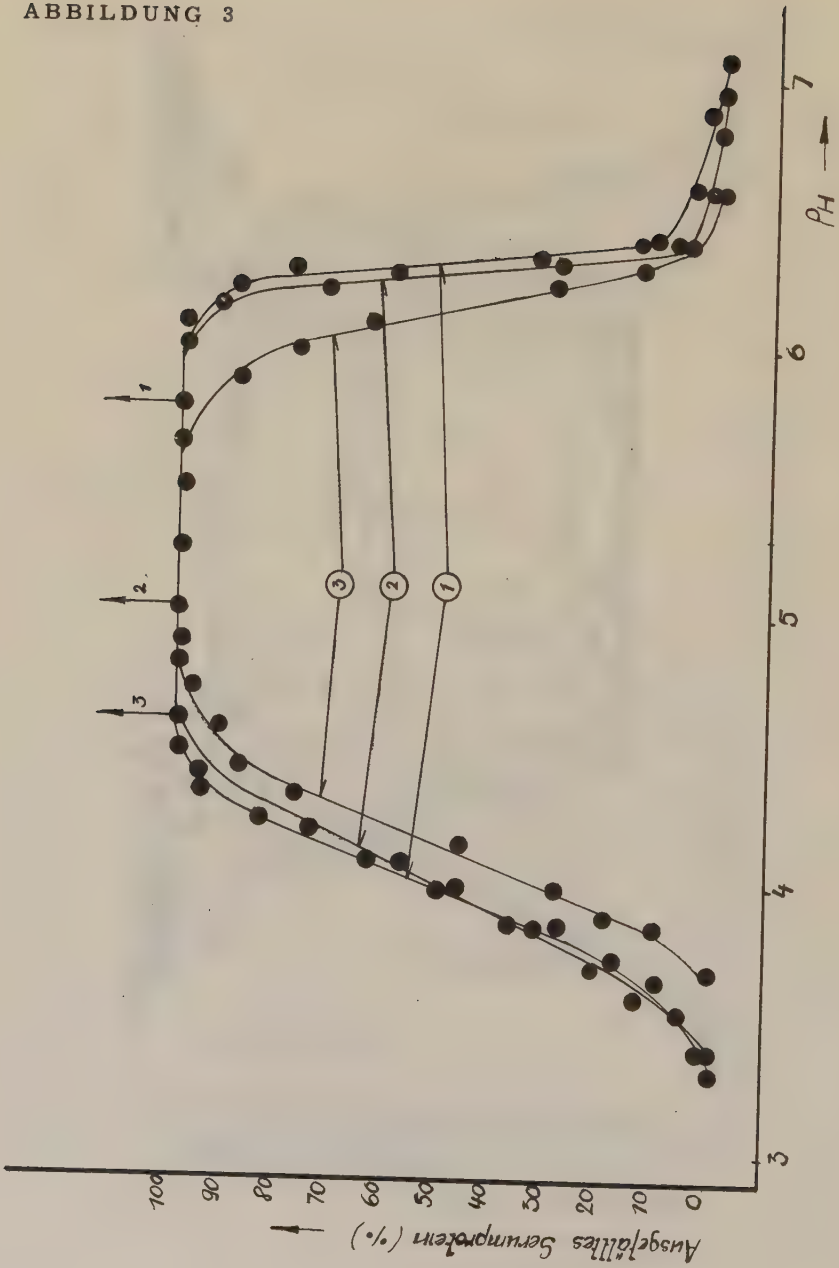


ABBILDUNG 4

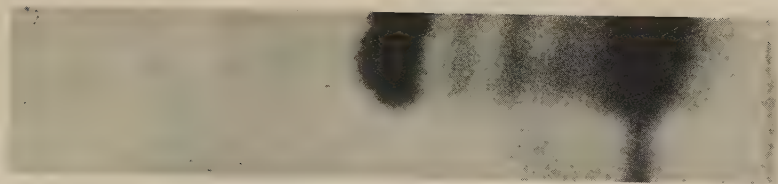


ABBILDUNG 5

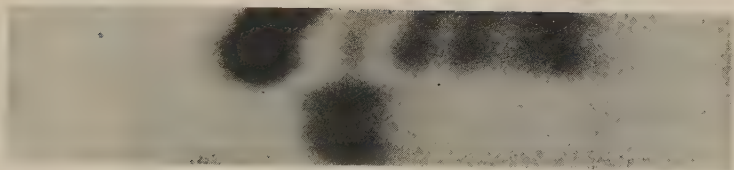


ABBILDUNG 8



ABBILDUNG 6

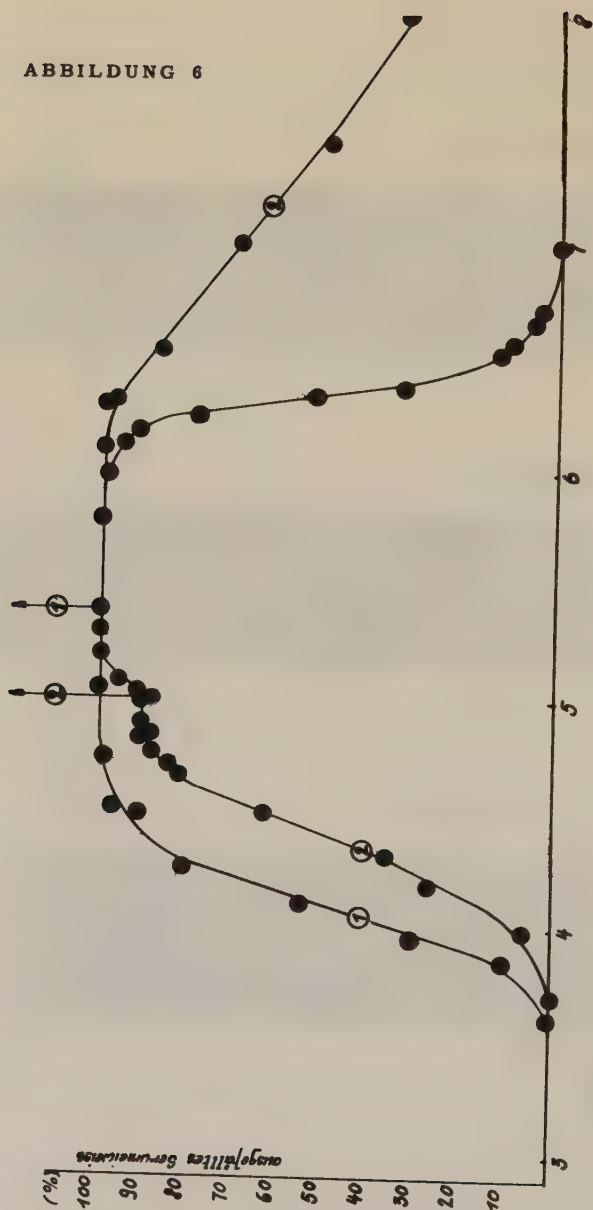
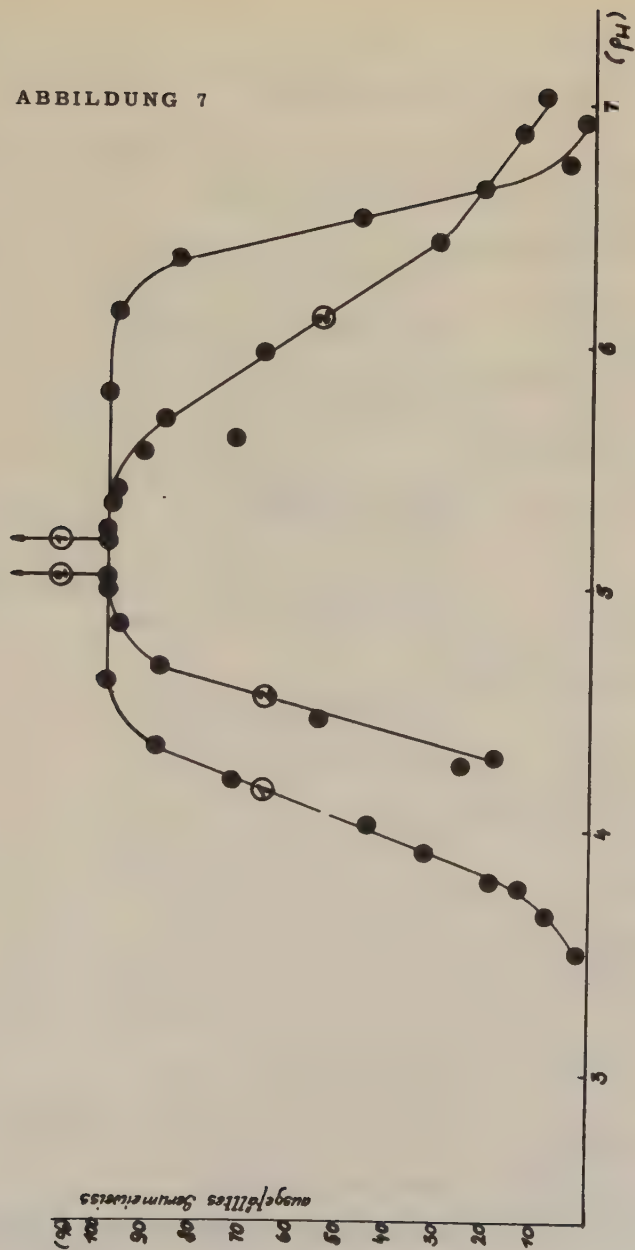


ABBILDUNG 7



LITERATUR

- 1) Armstrong, S.H. jr., Budka, M.I.E., Morrison, K.M.:
J. Am. Chem. Soc. (1947)
- 2) Cohn, E.I., McMeecin, T.L., Oncley, I.L., Newell, I.M., Hughes, W.L.:
J. Am. Chem. Soc. 62, 3386 (1940)
- 3) Cohn, E.I.:
J. Am. Chem. Soc. 49, 173 (1927)
- 4) Davis, B.D., Kabat, E.A., Harris, A. and Moore, D.H.:
J. Immunol. 50, 1 (1945)
- 5) Dirr, K. und Dietz, E.:
Münchn. med. Wschr. 1308, (1954)
Röntgen- und Laborat.-Prax. 7, 305 (1954) und
7, 362 (1954), Z. inn. Med. 9, 977 (1954)
- 6) Dirr, K.:
Ber. Physiol. 172, 166 (1955), diese Z. 300, 237
(1955), Klin. Wschr. 818 (1955)
- 7) Dirr, K. und Fischöeder, E.:
Klin. Wschr. 300, 241 (1955)
- 8) Howe, P.E.:
J. Biol. Chem. 49, 93 (1921)
- 9) Kekwick, R.A., Record, B.R.:
Brit. J. Exptl. Path. 22, 29 (1940)
- 10) Kjeldahl, I.:
Z. anal. Chemie 214, 38 (1883)
- 11) Longsworth, L.G.:
Chem. Revs. 30, 323 (1942)
- 12) Longsworth, L.G., Shedlovsky, T., McInnes, D.A.:
J. Exptl. Med. 70, 399 (1939)
- 13) Moore, D.H., van der Scheer, Wyckoff:
J. Immunol. 38, 221 (1940)
- 14) Mutzenbecher, P.:
Biochem. Z. 266, 226, 250, 259 (1933)
- 15) McFarlane, A.S.:
Nature 149, 439 (1942)
- 16) Pederson, K.O.:
Ultracentrifugal Studies on Serum and Serum-
Fractionations, Uppsala 178 pp (1945)

- 17) Perlmann, G.E., Kaufmann, D.:
J. Am. Chem. Soc. 67, 638, (1945)
- 18) Philpot, I.S.L.:
Nature 141, 238 (1938)
- 19) Smith, E.L.:
J. Biol. Chem. 164, 345 (1946)
- 20) Svenson, H.:
Ark. Kenn. Min. Geol. 22 A, No 10 (1946)
- 21) Tiselius, A.:
Trans. Faraday Soc. 33, 524 (1937)
- 22) Tiselius, A., Kabat, E.A.:
J. Exptl. Med. 69, 119, (1939)
- 23) Weichselbaum:
Vorschriftensammlung zum Photometer Eppendorf
- 24) Wuhrmann, F., Wunderly, C.:
Helv. Med. Acta Suppl. X 138 pp (1943)

L E B E N S L A U F

Ich wurde am 10.7.1929 als Sohn der Eheleute Hartwig und Gertrud Becker in München geboren.

In München besuchte ich vier Jahre die Volksschule und daran anschliessend bis 1951 das Realgymnasium (Altes Realgymnasium München). Hier machte ich auch mein Abitur. Nach Erhalt des Reifezeugnisses begann ich an der Universität München mein Medizinstudium.

An dieser Universität legte ich 1954 das Physikum ab, fertigte von 1955 bis 1956 bei Herrn Professor Dr. Dr. K. DIRR meine Doktorarbeit an und absolvierte am 24.7.1957 das ärztliche Staatsexamen.

Seit 31.7.1957 bin ich verheiratet.

Vom 20.8.1957 bis zum 31.12.1957 war ich als Medizinalassistent am Krankenhaus Ottobrunn tätig. Seitdem arbeite ich als Medizinalassistent an der II. medizinischen Universitätsklinik München.

